

Frequency of sex-linked lethals in the progeny of ♂♂ which had been exposed to the same dose of mustard gas in (a) nitrogen, (b) oxygen.

Exp.	Nitrogen			Oxygen		
	No. chromosomes tested	No.	%	No. chromosomes tested	No.	%
I	415	26	6.2	602	32	5.3
II	687	68	9.9	520	54	10.4

In spite of all the precautions used it is not possible to affirm that the amount of mustard gas administered in the two series of one experiment was identical. However, the difference can have been only slight, and it seems safe to conclude that, should oxygen exercise an effect on the production of mutations by mustard gas, this effect cannot be of the same order of size as observed for X-radiation. This lends support to the view which considers that the contrasting results obtained with irradiation indicate that oxygen is involved specifically in the production of mutations by X-rays.

We want to acknowledge gratefully the help of the Honours and Diploma class which in the spring term 1951 carried out the genetical part of the first experiment.

C. AUERBACH and H. MOSER

Institute of Animal Genetics, University of Edinburgh, May 31, 1951.

Zusammenfassung

Senfgasbehandlung von *Drosophila*-Männchen wurde in einer Atmosphäre von reinem Sauerstoff und von reinem Stickstoff vorgenommen. Die mutagene Wirkung erwies sich quantitativ als unabhängig von dem benutzten reinen Gas. Dieses Resultat stellt einen Gegensatz dar zu ähnlichen Versuchen mit Röntgenstrahlen und deutet auf einen Unterschied in der primären mutagenen Wirkung dieser beiden Agentien hin.

The Use of Solvents in Tissue Cultures

In a series of investigations we have tried to evaluate in tissue cultures the antimitotic activity of some quinones and related compounds¹. So far, we have used for this purpose only water-soluble substances. No adequate method for water-insoluble substances was available. Previous investigators have tried to overcome this difficulty by working with acetone or alcohol as solvents. Both solvents may influence the cells in mitosis and, or resting cells, as pointed out by v. MÖLLENDORFF² and by BUCHER³, and in spite of a number of controls the results remain unsatisfactory in tissue cultures.

As we had to deal repeatedly with water-insoluble substances our experiments remained incomplete. We had to look, therefore, for ways of filling the gaps of our investigations. A suitable solvent was found in ethylene glycol monoethylether (Cellosolve). We combined it with gum ghatti, introduced by FOLIN⁴, for biochemical work and used more recently by ANSON⁵ and by MIRSKY⁶.

¹ E. FRIEDMANN, D. H. MARRIAN, and I. SIMON-REUSS, Brit. J. Pharmacol. **3**, 263, 335 (1948); **4**, 105 (1949). – E. FRIEDMANN, Bull. Soc. Chim. biol. **31**, 506 (1949).

² W. v. MÖLLENDORFF, Klin. **18**, 1098 (1939).

³ O. BUCHER, Vjschr. Naturforsch. Ges. Zürich **92**, 232 (1947).

⁴ O. FOLIN and H. MALMROS, J. Biol. Chem. **83**, 115 (1929).

⁵ M. L. ANSON, J. Gen. Physiol. **24**, 399 (1941).

⁶ A. E. MIRSKY, J. Gen. Physiol. **24**, 309 (1941).

We dissolved the substance to be tested in Cellosolve, added the same volume of a preparation containing 2% of sterile gum ghatti (B.D.H.) to give a 2×10^{-3} M solution of our compound. The mixture was diluted with sterile Tyrode fluid to a molar concentration of 2×10^{-5} which was mixed 1:1 with embryo extract. This was the highest concentration used in tissue cultures with these compounds. It contained the substance at 1×10^{-5} M concentration, further 0.25% Cellosolve and 0.25% of a 2% solution of gum ghatti.

Controls carried out in tissue cultures of chick fibroblasts with a mixture containing 0.25% Cellosolve and 0.25% of a 2% solution of gum ghatti gave no inhibition of mitosis, and no abnormal dividing cells or resting cells were observed. In contrast the corresponding mixtures prepared with acetone instead of Cellosolve showed a great number of clumped metaphases, some fragmentations and undivided telophases.

A number of water-insoluble substances have been tested in tissue cultures with the described method. Satisfactory results were obtained. These experiments will be reported elsewhere.

One of us (E. F.) is indebted to Messrs. MAY & BAKER Ltd., Dagenham, for financial support.

E. FRIEDMANN and (Mrs.) I. SIMON-REUSS

Department of Radiotherapeutics, University of Cambridge, England, May 9, 1951.

Zusammenfassung

Für die Prüfung wasserunlöslicher Substanzen in Gewebeskulturen hat sich eine Lösung der Substanzen in Äthylen-glykol-monoäthylester (Cellosolve) und Zusatz des gleichen Volumens steriler 2%iger Gummi-ghatti-Lösung bewährt. Die Arbeitsweise zur Herstellung entsprechend verdünnter Lösungen, wie sie in Gewebeskulturen benutzt werden, wird beschrieben.

Purines libres et mononucléotides dans l'embryon de batracien

De récentes observations¹ semblent confirmer une hypothèse émise par BRACHET² selon laquelle les phénomènes d'induction, chez les embryons de batraciens, seraient accompagnés d'une migration d'acide ribonucléique de l'inducteur vers le neuroblaste; cet acide nucléique se déplacerait en liaison avec des structures cytoplasmiques et non sous la forme de mononucléotides. Il nous a paru utile cependant de rechercher si, au stade du développement où se fait l'induction, il ne serait pas possible de déceler une libération de mononucléotides.

Après quelques essais, nous avons adopté une technique fort simple de dosage, basée sur l'absorption dans l'ultra-violet des purines ou composés puriques acidosolubles et sur l'analyse de ces substances par chromatographie sur papier. Les embryons sont homogénéisés et extraits deux fois à l'acide perchlorique 1% à 0°C. Cet extrait brut, même après centrifugation, présente toujours un léger trouble qui ne disparaît qu'après une agitation vigoureuse avec un égal volume de chloroforme. Nous avons pu vérifier qu'au cours de cette opération la totalité des purines reste dans la phase aqueuse. Le spectre d'absorption de ces extraits est déterminé, entre

¹ J. BRACHET, Exper. **4**, 56 (1950). – J. BRACHET et F. HUGON DE SCOËUX, J. Cyto-embryol. belgo-néerland. Gand **56** (1949).

² J. BRACHET, Exper. **4**, 56 (1950); Rev. Suisse Zool. **57**, suppl. I, 57 (1950). – J. BRACHET et F. HUGON DE SCOËUX, J. Cyto-embryol. belgo-néerland. Gand **56** (1949).

225 et 300 m μ , au spectrophotomètre de Beckman; il ne montre pratiquement pas l'accroissement de l'extinction aux faibles longueurs d'onde que donnent les impuretés protéiques. Des extraits plus concentrés sont chromatographiés sur papier par le solvant propanol-NH₄OH-H₂O¹.

Trois espèces d'anoures et autant d'urodèles ont été étudiées à divers stades. Toutes, au début de leur développement, ont donné des extraits présentant un maximum d'absorption unique vers 250 m μ et non à 260 m μ , comme on aurait pu s'y attendre si le composé purique prédominant avait été de l'acide adénylique ou de l'acide adénosine triphosphorique. L'espèce *Rana fusca* a été étudiée d'une manière plus approfondie que les autres: nous avons pu constater que, jusqu'au stade du bourgeon caudal, l'embryon ne contient que des traces d'acide adénosine-5-phosphorique. Aucun autre nucléotide n'a pu y être décelé, pas plus au moment où se fait l'induction qu'aux autres stades du développement. Par contre, nous avons toujours observé d'importantes quantités d'hypoxanthine et de guanine jusqu'au moment de l'éclosion: ce sont ces bases puriques libres qui sont responsables de l'absorption avec un maximum à 250 m μ . L'hypoxanthine a pu être identifiée avec certitude par oxydation enzymatique selon la méthode de KALCKAR². Ces deux purines ont aussi été caractérisées chez le triton (*Triton alpestris*), et il est probable qu'elles sont des constituants normaux des œufs de tous les batraciens. Ces purines libres se trouvent déjà en quantité maxima dans les oocytes mûrs et elles disparaissent progressivement au cours du développement à partir de la gastrulation. Au moment de l'éclosion, il ne reste que 30 à 40% de la quantité présente dans l'œuf fécondé. Une importante synthèse d'acide adénosine-5-phosphorique commence au stade du bourgeon caudal, phénomène qui pourrait peut-être se trouver en rapport avec l'apparition de l'activité musculaire.

La signification de la présence de l'hypoxanthine et de la guanine dans les œufs de batraciens reste à établir. On peut évidemment supposer qu'il ne s'agit là que de produits du catabolisme de l'oocyte qui seraient lentement éliminés au cours du développement de l'embryon. Une autre hypothèse, beaucoup plus séduisante, serait de considérer ces purines comme des précurseurs des purines nucléiques, adénine et guanine. On sait en effet que l'hypoxanthine³ et la guanine⁴ sont utilisées par certains organismes dans la synthèse des acides nucléiques. De récents travaux, concernant la synthèse *in vitro* des nucléosides et des nucléotides, sont aussi favorables à une telle hypothèse⁵.

MAURICE STEINERT

Laboratoire de morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université libre de Bruxelles, le 5 juillet 1951.

Summary

It has been shown that frog embryos contain free hypoxanthine and guanine. These purines are present in the mature oocytes and begin to disappear at the following early gastrulation. An appreciable synthesis of ATP begins to take place at the tailbud stage. A hypothesis is formulated as to the probable rôle of free purines in nucleic acid synthesis.

¹ C. S. HANES et F. A. ISHERWOOD, *Nature* 162, 1107 (1949).

² H. M. KALCKAR, *J. Biol. Chem.* 167, 429 (1947).

³ H. K. MITCHELL et M. B. HOULAHAN, *Fed. Proc.* 5, 370 (1946); *Symp. Quant. Biol.* 17 (1946).

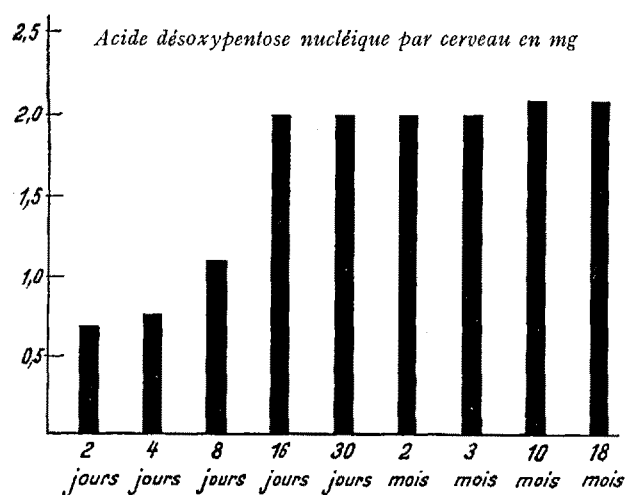
⁴ S. E. KERR, K. SERAIDAN et G. B. BROWN, *J. Biol. Chem.* 188, 207 (1951).

⁵ H. M. KALCKAR, *J. Biol. Chem.* 167, 477 (1947). – M. FRIEDKIN et H. M. KALCKAR, *J. Biol. Chem.* 184, 437 (1950). – J. WAJZER et Fr. BARON, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 31, 750 (1949).

Fixation du terme de la croissance du cerveau chez le Rat par l'étude de l'acide désoxypentose nucléique

Il est actuellement bien admis que l'acide désoxypentose nucléique (ADN) est localisé dans le noyau et représente un des constituants biochimiques essentiels des chromosomes. L'accroissement du nombre de chromosomes, phénomène fondamental de la prolifération des noyaux, se traduit de ce fait par une augmentation de l'ADN du tissu au sein duquel s'effectue une multiplication des noyaux cellulaires.

Contrairement à ce que l'on pensait (BOIVIN¹ et MIRSKY et RIS²) la quantité d'ADN n'est pas identique pour tous les noyaux somatiques de tous les organes à l'intérieur d'une espèce (PASTEELS et LISON³, MANDEL, METAIS⁴ et MANDEL⁵) en raison de la polyploïdie plus ou moins accusée que l'on rencontre dans certains organes. Il est impossible dans ces conditions de conclure d'une augmentation de l'ADN à un accroissement rigoureusement parallèle du nombre de cellules, sauf dans le cas où leurs noyaux sont essentiellement, sinon exclusivement diploïdes tels les leucocytes⁶. Toutefois en dehors des organes dans lesquels on note une proportion importante de cellules polyploïdes (foie, pancréas) l'accroissement de l'ADN traduit en première approximation le rythme de la multiplication cellulaire.



En partant de ces principes nous avons étudié⁷ l'évolution de l'ADN du cerveau de l'embryon de Poulet et proposé de considérer l'accroissement de l'ADN comme reflet du rythme des multiplications nucléaires. Dans ce même esprit, DAVIDSON et LESLIE⁸ ont étudié le développement embryonnaire du cerveau, du foie et du myocarde du Poulet, accordant également à l'ADN le caractère de témoin de la prolifération cellulaire.

¹ A. BOIVIN, R. VENDRELY et C. VENDRELY, *C. r. Acad. Sci.* 226, 1061 (1948).

² A. MIRSKY et H. RIS, *Nature* 163, 666 (1949); *J. Gen. Physiol.* 33, 125 (1949).

³ J. PASTEELS et L. LISON, *C. r. Acad. Sci.* 230, 780 (1950).

⁴ P. MANDEL, P. METAIS et S. CUNY, *C. r. Acad. Sci.* 231, 1168 (1950).

⁵ P. MANDEL, *Exposés annuels Biochimie Médicale* (sous presse).

⁶ J. PASTEELS et L. LISON, *C. r. Acad. Sci.* 230, 780 (1950). – P. MANDEL, P. METAIS et S. CUNY, *C. r. Acad. Sci.* 231, 1168 (1950).

⁷ P. MANDEL, R. BIETH et R. STOLL, *C. r. Soc. Biol.* 142, 1020 (1948); *Bull. Soc. Chim. Biol.* 31, 1385 (1949).

⁸ J. N. DAVIDSON et J. LESLIE, *Nature* 165, 49 (1950).